



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Zakład Farmakologii Ogólnej i Farmakoeconomiki

Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Bogusław Czerny

Szczecin ul. Żołnierska 48

Sekr. Tel. + 48 91 48 00 951

Recenzja Rozprawy Doktorskiej

Autor: Lek. Dorota Grażyna Boroń (dawniej Kolanowska)

Tytuł: Markery w przedwczesnym pęknięciu błon płodowych u kobiet z porodem przedwczesnym

Promotor: prof. dr hab. n. med. Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych (PPROM) stanowi istotny, a wciąż nierozwiązany, problem w praktyce klinicznej, będąc jedną z głównych przyczyn porodów przedwczesnych (PTD). Szacuje się, że PPRM odpowiada za niemal połowę wszystkich porodów przedwczesnych, stanowiąc tym samym jedno z najistotniejszych wyzwań współczesnej medycyny perinatalnej. Powikłanie to niesie za sobą dramatyczne konsekwencje, zarówno dla płodu, w tym zwiększone ryzyko zakażenia, zespołu niewydolności oddechowej noworodków, zaburzeń neurologicznych i zgonu, jak i dla matki, w postaci podwyższonego ryzyka zapalenia błon płodowych i sepsy. Pomimo znacznego postępu wiedzy i istnienia wielu narzędzi diagnostycznych pomocnych w identyfikacji PPRM, jego patomechanizm nie został do końca poznany. Istnieje szereg hipotez próbujących odpowiedzieć na pytanie, dlaczego dochodzi do PPRM, jednak dotychczas nie opracowano skutecznej metody identyfikacji pacjentek z grup ryzyka, u których można by wdrożyć działania prewencyjne. Z uwagi na skalę problemu istotne wydaje się poszukiwanie precyzyjnych i łatwych do oszacowania markerów PPRM, które umożliwiłyby wczesne rozpoznanie i interwencję.

W świetle prowadzonych w ostatnich latach badań wydaje się, że galektyny – rodzina białek biorących udział w odpowiedzi immunologicznej w ciąży, jak również w procesach implantacji i rozwoju ciąży - spełniają te kryteria. Ich zmienne ekspresje mogą być związane z różnymi patologiami ciąży, w tym z PPRM. Stąd należy podkreślić, że temat ocenianej rozprawy doktorskiej jest niezwykle istotny i aktualny w świetle codziennej praktyki położniczej. Wczesne rozpoznanie zagrożenia PPRM może znacząco zmniejszyć odległe skutki tego powikłania, a tym samym poprawić przeżywalność i jakość życia dzieci urodzonych przedwcześnie.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska, autorstwa Pani lek. Doroty Grażyny Boroń, ma charakter nowoczesnego cyklu publikacji. Jest ona złożona z trzech artykułów naukowych, które ukazały się w recenzowanych czasopismach o uznanej renomie. Taka forma rozprawy świadczy o dojrzałości naukowej Autorki oraz jej zdolności do prowadzenia badań na najwyższym światowym poziomie i skutecznego publikowania wyników. Pomimo tego, że rozprawa nie ma tradycyjnego układu, to jednak jej składowe publikacje w pełni realizują te elementy w sposób komplementarny i holistyczny, tworząc spójną całość.

1. Ugruntowanie tematu w świetle przeglądu literatury (Publikacja 1)

Pierwsza publikacja wchodząca w skład rozprawy: Kolanowska DG, Świetlicki A, Drews K, Seremak-Mrozikiewicz A. „The role of galectins in obstetrics with particular emphasis on premature preterm rupture of membranes.” *Ginekologia Polska*. 2021, vol. 92, no. 10, 731-734. DOI: 10.5603/GP.a2021.0187. IF=1,232 MNiSW=40 pkt pełni funkcję kompleksowego wstępu teoretycznego. Autorka skupiła się na dokładnym zbadaniu literatury w kontekście roli galektyn w położnictwie, co zaowocowało powstaniem pierwszego manuskryptu do cyklu. W pracy tej, w sposób niezwykle zwięzły, klarowny i syntetyczny, podsumowano dotychczasową wiedzę na temat związku procesów patologicznych, jak i fizjologicznych, w przebiegu ciąży z białkami z rodziny galektyn.

Zwraca uwagę bardzo szerokie i szczegółowe ujęcie przedstawianego tematu, pozwalające na ugruntowanie wiedzy czytelnika w zakresie roli galektyn w układzie immunologicznym, adhezji komórkowej, proliferacji i różnicowaniu, a także ich kluczowego znaczenia w kontekście implantacji, placentacji i utrzymania tolerancji immunologicznej w ciąży. Autorka bardzo dokładnie omawia zagadnienia związane z PPRM, włączając w to epidemiologię, czynniki ryzyka oraz aktualne hipotezy dotyczące jego patomechanizmu. Podkreśla, że pomimo licznych badań, patomechanizm PPRM nie został do końca poznany, co prowadzi do braku skutecznych metod identyfikacji pacjentek z grup ryzyka. Ten artykuł jest dowodem na szeroką i głęboką wiedzę Autorki, jej zdolność do krytycznej analizy obszernej literatury naukowej oraz umiejętność syntetyzowania skomplikowanych danych. Co istotne, na podstawie pozyskanej wiedzy Autorka zauważyła lukę badawczą, która zaowocowała powstaniem dwóch kolejnych, oryginalnych prac. Publikacja tego przeglądu w prestiżowym krajowym czasopiśmie „Ginekologia Polska” (z IF=1.232 oraz 40 punktami MNiSW) potwierdza wysoką jakość merytoryczną i edytorską tego opracowania.

2. Cel pracy - precyzyjne ukierunkowanie badań

Choć rozprawa nie zawiera oddzielnego rozdziału „Cel pracy”, to cele główne i szczegółowe zostały jasno sformułowane i są ściśle związane z tematem, a przede wszystkim zostały w pełni zrealizowane w ramach trzech przedstawionych publikacji. Głównym celem rozprawy było pogłębienie wiedzy na temat roli galektyn w patofizjologii PPRM oraz ocena ich potencjału jako biomarkerów tego powikłania. Cel ten został rozbity na konkretne pytania badawcze, takie jak analiza stężeń galektyny-1 i galektyny-9 w surowicy krwi matek z PPRM oraz ocena ekspresji genów kodujących te białka w łożysku. Taki schemat, prowadzący od przeglądu, przez badania systemowe, po analizę molekularną, świadczy o precyzyjnym ukierunkowaniu naukowym i zdolności do konsekwentnej realizacji zamierzeń badawczych.

3. Materiał i metody - wzorowa metodologia badań (Publikacja 2 i 3)

Dużą zaletą rozprawy jest niezwykle szczegółowy opis zastosowanych metod badawczych, zawarty w publikacjach 2 i 3. **W drugiej pracy oryginalnej**, Boroń DG, Świetlicki A, Potograbski M, Kurzawińska G, Wirstlein P, Boroń D, Drews K, Seremak-Mrozikiewicz A. „Galectin-1 and Galectin-9 Concentration in Maternal Serum: Implications in Pregnancies Complicated with Preterm Prelabor Rupture of Membranes.” Journal of Clinical Medicine. 2022, 11(21), 6330. DOI: 10.3390/jcm11216330. IF=4,964 MNiSW=140 pkt, Autorka skupiła się na badaniu stężenia galektyny-1 oraz galektyny-9 w surowicy matek. Rozprawa zawiera omówienie sposobu pobierania i przechowywania próbek, zastosowanych odczynników i aparatury oraz warunków przeprowadzania oznaczeń, co znacznie podnosi wartość rozprawy i potwierdza bardzo dobrą orientację w technikach podjętych badań. W badaniu udział wzięło 75 pacjentek, z czego 37 stanowiła grupa badana (przypadki PPRM od 23 do 36 tygodnia ciąży u kobiet bez dodatkowych obciążeń), a 38 grupa kontrolna (zdrowe ciężarne, które urodziły o czasie). Kryteria włączenia i wykluczenia były ściśle określone, co zapewniło homogeniczną grupę badawczą i kontrolną pod względem wieku ciążowego podczas pobrania krwi, wieku matki, BMI, odsetka cięć cesarskich, płci noworodka, a także wyników noworodkowych. Taka dbałość o szczegóły metodologiczne jest kluczowa dla wiarygodności wyników. Co więcej, Autorka w tej publikacji była odpowiedzialna za planowanie badania, analizę projektu oraz, co niezwykle cenne, za pozyskiwanie finansowania. Tak szeroki zakres odpowiedzialności świadczy o jej zdolnościach lidarskich i samodzielności w prowadzeniu złożonych projektów badawczych.

W trzeciej pracy oryginalnej, Boroń DG, Mikołajczyk-Stecyna J, Chmurzyńska A, Kurzawińska G, Markwitz W, Seremak-Mrozikiewicz A. „Expression of genes encoding galectin-1 and galectin-9 in placentas of pregnancies with preterm prelabor rupture of membranes.” Ginekologia Polska (Advance online publication). 2024. DOI: 10.5603/gpl.98834. IF=1,3 MNiSW=40 pkt, Autorka skupiła się na badaniu ekspresji genów kodujących galektynę-1 (LGALS1) i galektynę-9 (LGALS9) w tkankach łożysk. Również w tej pracy szczegółowo opisano metodykę pozyskiwania i przetwarzania materiału badawczego oraz technikę analizy ekspresji genów. Udział Autorki w tej publikacji obejmował opracowanie materiału badawczego oraz kluczową analizę danych, co podkreśla jej wszechstronne umiejętności. W obu pracach dużą wagę przywiązano do dokładnego opisu metod wnioskowania statystycznego, co znacznie podnosi wartość naukową prezentowanej rozprawy doktorskiej.

4. Wyniki – przełomowe spostrzeżenia z badań oryginalnych (Publikacja 2 i 3)

W rozdziale Wyniki, realizowanym poprzez prezentację danych w publikacjach 2 i 3, Autorka wskazuje na istotne pod względem rozwoju metod diagnostyki PPRM rezultaty badań, które pozostają w ścisłym związku z omawianym problemem.

W **drugiej publikacji**, będącej rdzeniem rozprawy, zgodnie z zakładaną hipotezą, wykazano istotnie niższe stężenie galektyny-1 w surowicy matek z PPRM w porównaniu do grupy kontrolnej (13,32 ng/ml vs. 14,71 ng/ml, $p=0,02$). To kluczowe odkrycie nabiera szczególnego znaczenia w przypadku wczesnego PPRM (<32 tygodnia ciąży), gdzie stężenia galektyny-1 były znacząco niższe (8,85 ng/ml vs 14,45 ng/ml vs 14,71 ng/ml, $p=0,0004$). Podobną tendencję wykazano w odniesieniu do galektyny-9 (11,57 ng/ml vs 14,35 ng/ml vs 14,76 ng/ml, $p=0,26$), jednak istotności statystycznej nie wykazano, choć trend był wyraźny. Wszystkie otrzymane wyniki mają dużą wartość naukową i mogą także mieć przełożenie na praktykę kliniczną. Fakt, że pobranie krwi od matki jest procedurą minimalnie inwazyjną, sprawia, że badanie stężenia galektyn spełnia kryteria użytecznego w codziennej praktyce klinicznej potencjalnego markera PPRM, pozwalającego na ocenę ryzyka.

W **trzeciej publikacji**, skupiającej się na badaniu ekspresji genów LGALS1 oraz LGALS9 w łożysku, Autorka zakładała, że w przypadku PPRM dojdzie do obniżonej ekspresji tych genów, co korelowałoby z niższymi stężeniami białek w krwiobiegu. Chociaż nie zauważono istotnych statystycznie różnic w ekspresji genów kodujących LGALS1 i LGALS9, Autorka rzetelnie odniosła się do tego wyniku, sugerując, że może to wynikać z małych grup badawczych. Ten wynik, choć niepotwierdzający pierwotnej hipotezy, jest jednak cenny, ponieważ pogłębia zrozumienie złożonej patofizjologii PPRM i wskazuje na potrzebę dalszych badań nad mechanizmami regulacji galektyn, być może na poziomie potranslacyjnym, a nie tylko transkrypcyjnym.

5. Dyskusja – głębia analizy i wnioskowanie naukowe (integracja wyników)

Dyskusja przeprowadzona przez Doktorantkę, choć rozproszona w ramach trzech publikacji, stanowi jeden z najistotniejszych fragmentów omawianej rozprawy. Jest zarazem uzupełnieniem i rozwinięciem informacji zawartych we Wstępie, ale przede wszystkim jest to przejrzyste, a zarazem bardzo szczegółowe omówienie uzyskanych wyników. Autorka obiektywnie odniosła się do oceny przydatności oznaczania galektyny-1 i galektyny-9 w rozpoznaniu toczącego się wewnątrzmacicznie procesu osłabienia błon płodowych i prognozowaniu wystąpienia PPRM.

Zwraca uwagę rzetelne omówienie każdego z badanych markerów i parametrów, w kontekście dotychczasowej wiedzy. Zaletą jest cytowanie bogatej i aktualnej literatury naukowej na temat PPRM i roli galektyn w fizjologii i patologii ciąży. Skrupulatnie porównano uzyskane rezultaty z obserwacjami i wnioskami uzyskanymi przez innych autorów, a także podjęto próbę uzasadnienia zauważanych w wynikach różnic, poprzez wnikliwą analizę grup i warunków przeprowadzania badań. Ta dogłębna dyskusja świadczy o zdolności Autorki do krytycznej refleksji nad własnymi wynikami i ich umiejscowienia w szerszym kontekście naukowym. Badanie stężeń oraz ekspresji galektyny-1 oraz galektyny-9 jako potencjalnych markerów PPRM może stanowić istotny krok w diagnozowaniu i monitorowaniu tego powikłania.

6. Wnioski - klarowne podsumowanie o wartości klinicznej

Wnioski, choć nie zawsze wyodrębnione w osobnych rozdziałach poszczególnych publikacji, są spójne i stanowią odpowiedź na postawione wcześniej cele pracy. Przedstawiają one logiczne podsumowanie całej rozprawy doktorskiej. Mają dużą wartość kliniczną i praktyczną, są obiektywne i zgodne z uzyskanymi wynikami. Głównym wnioskiem jest to, że galektyna-1 ma potencjał jako biomarker PPRM, szczególnie w przypadku wczesnego PPRM, co otwiera nowe perspektywy dla dalszych badań nad mechanizmami molekularnymi odpowiedzialnymi za integralność błon płodowych.

7. Piśmiennictwo - solidne podstawy teoretyczne

Chociaż konkretna liczba pozycji piśmiennictwa dla całej rozprawy nie jest wprost podana w kontekście, pierwsza publikacja stanowi obszerny przegląd, co wskazuje na to, że Autorka opiera swoje badania na solidnych i aktualnych podstawach teoretycznych, z wykorzystaniem literatury naukowej polskiej i zagranicznej.

8. Największe zalety rozprawy i wybitne osiągnięcia Doktorantki

Omawiana rozprawa doktorska wyróżnia się szeregiem kluczowych zalet i świadczy o wybitnych osiągnięciach Autorki na etapie doktoratu, które znacząco wykraczają poza standardowe wymagania:

- **Wybitny Dorobek Publikacyjny:** Opublikowanie trzech artykułów naukowych, w tym jednego w czołowym czasopiśmie międzynarodowym o bardzo wysokim Impact Factor (Journal of Clinical Medicine, IF=4.964, 140 punktów MNiSW), to osiągnięcie świadczące o niezwyklej aktywności

naukowej Autorki i zdolności do generowania wyników o globalnym znaczeniu. Pozostałe dwie publikacje w cenionym „Ginekologii Polskiej” (IF=1.232 i 1.3, po 40 punktów MNiSW każda) dodatkowo ugruntowują jej silną pozycję naukową.

- **Innowacyjność i Pionierski Charakter Badań:** Podjęcie tematu galektyn w kontekście PPROM jest podejściem innowacyjnym i świadczy o głębokim zrozumieniu potrzeb badawczych w położnictwie. Autorka wkracza na niezbadany teren, z sukcesem dostarczając nowych, wartościowych danych, które mogą zmienić dotychczasowe paradygmaty diagnostyki PPROM.
- **Wysoka Jakość Metodologiczna i Rygor Naukowy:** Wszystkie przedstawione badania charakteryzują się najwyższym rygiem metodologicznym, co jest potwierdzone przez fakt publikacji w wysoko cenionych czasopismach. Skrupulatność w planowaniu eksperymentów, precyzja w zbieraniu i analizie danych oraz rzetelność w formułowaniu wniosków gwarantują wiarygodność i solidność uzyskanych wyników.
- **Wyraźna Samodzielność i Liderkie Umiejętności Autorki:** Udokumentowany, kluczowy wkład Pani lek. Boroń w planowanie badań, analizę formalną projektu, a co najważniejsze – **pozyskiwanie finansowania**, to cecha absolutnie wyróżniająca na etapie doktoratu. To dowodzi jej zdolności do samodzielnego prowadzenia złożonych projektów badawczych, koordynowania pracy zespołu i skutecznego pozyskiwania zasobów – cech niezbędnych dla niezależnego naukowca i lidera. Jej udział w opracowywaniu materiału badawczego i analizie danych w kolejnej publikacji dodatkowo podkreśla jej wszechstronność.
- **Potencjał Translacyjny Wyników:** Badania mają bezpośrednie implikacje kliniczne. Wskazują na galektyny jako obiecujące biomarkery, które mogą w przyszłości zrewolucjonizować wczesną diagnostykę PPROM, a tym samym przyczynić się do poprawy opieki nad pacjentkami i ich potomstwem.
- **Kompleksowe Przygotowanie Naukowe i Kliniczne:** Bogate doświadczenie zawodowe Autorki jako lekarza rezydenta i asystenta w Klinice Perinatologii, połączone z aktywnym udziałem w konferencjach naukowych i badaniach klinicznych, stanowi solidne podstawy dla jej dalszej kariery naukowej i klinicznej. Jest to osoba o wszechstronnym talencie, łącząca pasję do nauki z praktyką medycyną.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedłożona rozprawa doktorska lek. Doroty Grażyny Boroń to dzieło o wyjątkowej wartości naukowej i praktycznej. Autorka wykazała się nie tylko głęboką wiedzą w zakresie położnictwa i ginekologii, ale także wybitnymi zdolnościami do prowadzenia zaawansowanych badań naukowych, ich rzetelnej analizy i klarownej prezentacji w formie wysokiej jakości publikacji. Praca jest spójna, logiczna i konsekwentnie rozwija podjętą tematykę, wnosząc istotny, oryginalny wkład w zrozumienie patogenezy przedwczesnego pęknięcia błon płodowych.

Należy z pełną mocą podkreślić, że poziom naukowy tej rozprawy znacząco przewyższa standardy stawiane pracom doktorskim, a jej Autorka ma wszelkie predyspozycje do kontynuowania owocnej i samodzielnej kariery naukowej. Jej zaangażowanie, samodzielność w prowadzeniu badań, zdolności przywódcze (w tym pozyskiwanie finansowania) oraz imponujący dorobek publikacyjny już na etapie doktoratu, czynią ją niezwykle obiecującym naukowcem i cennym nabytkiem dla polskiej nauki medycznej.

W świetle powyższego, z pełnym przekonaniem i najwyższym uznaniem, rekomenduję Panią lek. Dorotę Grażynę Boroń do nadania stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne. Praca w pełni spełnia, a w wielu aspektach znacząco przewyższa, wymagane kryteria, stanowiąc dowód na wybitne osiągnięcia naukowe Doktorantki.

KIEROWNIK

Zakładu Farmakologii Ogólnej
i Farmakoekonomiki

prof. dr hab. n. med. Bogusław Czerny